

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES  
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum  
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum  
6. März 2003 (06.03.2003)

PCT

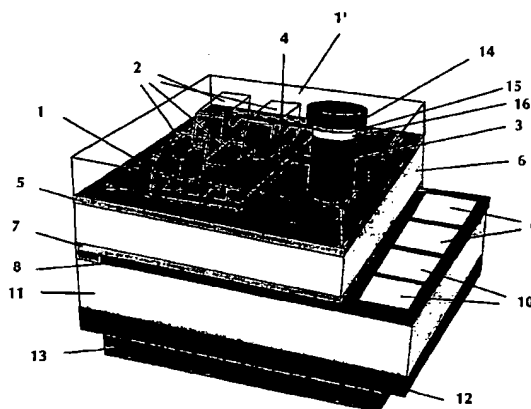
(10) Internationale Veröffentlichungsnummer  
**WO 03/019158 A2**

- (51) Internationale Patentklassifikation<sup>7</sup>: **G01N 21/03**,  
21/64, B01L 7/00
- (21) Internationales Aktenzeichen: **PCT/EP02/09340**
- (22) Internationales Anmeldedatum:  
21. August 2002 (21.08.2002)
- (25) Einreichungssprache: **Deutsch**
- (26) Veröffentlichungssprache: **Deutsch**
- (30) Angaben zur Priorität:  
2001 1544/01 21. August 2001 (21.08.2001) **CH**
- (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): **BESTMANN, Lukas** [CH/CH]; Rundstrasse 34, CH-8400 Winterthur (CH). **DUAL, Jürg** [CH/CH]; Waldegg 10a, CH-8126 Zumikon (CH).
- (72) Erfinder; und  
(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): **BÄCHI, Daniel** [CH/CH]; Zurlindenstrasse 277, CH-8003 Zürich (CH).
- (74) Anwälte: **HEPP, Dieter** usw.; Hepp Wenger Ryffel AG, Friedtalweg 5, CH-9500 Wil (CH).
- (81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW.
- (84) Bestimmungsstaaten (regional): ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE,

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: THERMO-OPTICAL ANALYSIS SYSTEM FOR BIOCHEMICAL REACTIONS

(54) Bezeichnung: THERMO-OPTISCHES ANALYSESYSTEM FÜR BIOCHEMISCHE REAKTIONEN



(57) Abstract: The invention relates to a reaction device, comprising a sample chamber matrix (1), comprising at least two reaction chambers (2) whose walls are permeable with respect to electromagnetic radiation in an area required for fluorescence measurement; at least one opening (3); a heating device (8a); and a temperature measurement device (8b). The invention also relates to a device (G) for carrying out and detecting chemical reactions, comprising at least one light source (24, 25) which emits electromagnetic radiation in an area required for fluorescence measurement, a detection device (28) for the detection of electromagnetic radiation in an area required for fluorescence measurement, said unit (28) being arranged at a right angle to the at least one light source (24, 25); a control unit comprising a central unit for controlling temperature and the at least one light source (24, 25), in addition to receiving and optionally processing a signal from the detection unit (28); an opening (H) for receiving the above-mentioned reaction device (17), said reaction device (R) being able to communicate with the control unit when inserted, being arranged on the plane of the at least one light source (24, 25) below the detection unit (28). The reaction device (R) and the device (G) are suitable for carrying out and evaluating chemical reactions or biochemical reactions such as a polymerase chain reaction.

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

WO 03/019158 A2



DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, SK, TR), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

*Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.*

**Veröffentlicht:**

— *ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts*

**(57) Zusammenfassung:** Die vorliegende Erfindung betrifft eine Reaktionsvorrichtung, umfassend eine Probenkammermatrix (1), enthaltend mindestens zwei Reaktionskammern (2), deren Wände für elektromagnetische Strahlung in einem für Fluoreszenzmessung erforderlichen Bereich durchlässig sind; mindestens eine Öffnung (3); eine Aufheizeinrichtung (8a); und eine Temperaturreguleinrichtung (8b). Die vorliegende Erfindung betrifft weiterhin ein Gerät (G) zur Durchführung und Detektion chemischer Reaktionen, umfassend mindestens eine Lichtquelle (24, 25), welche elektromagnetische Strahlung in einem für Fluoreszenzmessung erforderlichen Bereich emittiert; eine Erfassungseinheit (28) zur Erfassung von elektromagnetischer Strahlung in einem für Fluoreszenzmessung erforderlichen Bereich, wobei diese Einheit (28) im rechten Winkel zu der mindestens einen Lichtquelle (24, 25) angeordnet ist; eine Steuereinheit umfassend eine Zentraleinheit zur Steuerung der Temperatur und der mindestens einen Lichtquelle (24, 25) sowie zur Aufnahme und gegebenenfalls Verarbeitung eines Signals von der Erfassungseinheit (28); eine Öffnung (H) zur Aufnahme der vorstehenden Reaktionsvorrichtung (R), wobei die Reaktionsvorrichtung (R) in eingeführtem Zustand mit der Steuereinheit kommunizieren kann, sich in der Ebene der mindestens einen Lichtquelle (24, 25) und unterhalb der Erfassungseinheit (28) befindet. Die Reaktionsvorrichtung (R) und das Gerät (G) eignen sich zur Durchführung und Auswertung chemischer Reaktionen oder biochemischer Reaktionen wie der Polymerase-Kettenreaktion.

## **Thermo-optisches Analysesystem für biochemische Reaktionen**

Die vorliegende Erfindung betrifft ein thermo-optisches Analysesystem, das insbesondere zur Durchführung und Auswertung biochemischer Reaktionen geeignet ist.

Viele biochemische Reaktionen müssen bei einer bestimmten Temperatur durchgeführt werden, um ein optimales beziehungsweise überhaupt ein Resultat zu erzielen. Ein prominentes Beispiel ist die Polymerase-Kettenreaktion (PCR). Mit der PCR können Polynukleotide (wie DNA oder RNA) selektiv um den Faktor  $10^8$  bis  $10^9$  amplifiziert werden. Dadurch ist es möglich, die normalerweise geringen Mengen an DNA oder RNA, die in einer einem Organismus entnommenen Reaktionsmischung vorhanden sind, derart zu multiplizieren, dass eine eingehende Bestimmung bzw. Analyse der Polynukleotide (z.B. DNA oder RNA) möglich wird.

Die PCR ist beispielsweise in der US-4,683,195, der US-4,683,202, der US-4,800,159 und der US-4,695,188 beschrieben. Das Prinzip der PCR lässt sich wie folgt zusammenfassen: Zu einer Reaktionsmischung mit den zu amplifizierenden Polynukleotid werden ein Polymerase-Enzym zur Katalysierung der Amplifizierungsreaktion, Desoxyribonukleotidtriphosphate (dNTPs) als Bausteine der zu synthetisierenden Polynukleotide, Oligonukleotid-Primer zur Auslösung der Reaktion sowie gegebenenfalls weitere Stoffe wie Puffer gegeben. Dieses Reaktionsgemisch wird anschliessend einem Temperaturcyclus unterworfen, bei welchem das Gemisch für einen bestimmten Zeitraum auf eine definierte Temperatur gebracht wird. Ein üblicher Temperaturcyclus besteht darin, das Reaktionsgemisch zunächst für einen bestimmten Zeitraum (s bis min) auf eine Temperatur im Bereich von 90-100°C, danach für einen bestimmten Zeitraum auf eine Temperatur im Bereich von 40-80°C, und schliesslich das Gemisch für einen bestimmten Zeitraum auf eine Temperatur von etwa 70-75°C zu bringen. Bei den unterschiedlichen Temperaturen kommt es jeweils zu einer Denaturierung des Polynukleotids, zu einem Anhaften der die Polymerasereaktion auslösenden Primer sowie zur Polymerasereaktion selbst. Dieser Temperaturcyclus wird so oft wiederholt, bis eine gewünschte Menge an Polynukleotid im Gemisch vorhanden ist. Zwischenzeitlich können zusätzliche Schritte durchgeführt werden, beispielsweise zur Reinigung des Polynukleotids.

Anschliessend kann die amplifizierte Nukleinsäure (z.B. DNA oder RNA) mit bekannten Techniken erfasst werden. Hierfür sind eine Reihe von Methoden beschrieben, die beispielsweise auf optischen Prinzipien wie Fluoreszenzmessung oder auf einer Markierung des Polynukleotids mit radioaktiven Substanzen beruhen.

Es wurden eine Reihe von Systemen vorgeschlagen, die zur Durchführung der PCR und anschliessenden Analyse des amplifizierten Polynukleotids eingesetzt werden können. Die meisten derartigen Systeme sind jedoch sehr gross und ineffizient, da die Temperatursteuerung über externe Energiequellen erfolgt. Hierbei kommt es zu einem erheblichen Energieverlust, da ein erheblicher Teil des Systems aufgeheizt und abgekühlt werden muss. Die Einstellung der gewünschten Temperatur ist langwierig und mit Ungenauigkeiten behaftet. Bei Systemen, welche die Umgebungstemperatur zur Kühlung einsetzen, kann es sich bei hohen Umgebungstemperaturen als sehr schwierig bis unmöglich gestalten, das System auf eine Temperatur von etwa 25°C einzustellen.

In der US-5,589,136 und der US-5,639,423 ist ein Mikroreaktor zur Durchführung von chemischen Reaktionen beschrieben. Dieser Reaktor umfasst eine Reaktionskammer mit einer Öffnung, durch welche eine zu amplifizierende Reaktionsmischung in den Reaktor eingeführt werden kann. Die Reaktionskammer ist aus dotiertem Polysilicium sowie Rohsilicium aufgebaut, um ein kontrolliertes Aufheizen und Abkühlen zu gewährleisten. Die Reaktionskammer umfasst weiterhin Fenster aus Siliciumnitrid. Im Reaktor ist eine Heizvorrichtung gegenüber einem dieser Fenster angeordnet. Es ist beschrieben, dass die Detektion in einer entsprechenden Vorrichtung senkrecht zur Lichtquelle erfolgen kann. Dieses System ist jedoch kompliziert aufgebaut. Zur gleichzeitigen Durchführung mehrerer Vorgänge müssen mehrere separate Reaktionskammern in eine Reaktions- und Detektionsvorrichtung eingeführt werden.

In der US-5,958,349 ist ein Reaktionsgefäss für beispielsweise die PCR beschrieben. Dieses Reaktionsgefäss umfasst zwei grosse Flächen für eine schnelle Temperaturübertragung. Das Gefäss weist insgesamt eine dreieckige Form auf. Durch die kleineren Flächen des Gefässes kann Elektromagnetische Strahlung in das Gefäss eingeleitet bzw. ausgelesen werden.

Es sind Mehrkammersysteme für die PCR und anschliessende Detektion bekannt. Bei dem Gerät Perkin Elmer 7700 erfolgt die Lichtanregung der 96 Löcher einer Mikrotiterplatte durch eine einzige optische Faser. Diese muss jedoch über eine komplexe Mechanik geführt werden. Beim LightCycler von Roche werden einzelne Probenkapillaren sequentiell einer Fluoreszenzmessung unterzogen. Hierbei müssen die Probenkapillaren an der Anregungs- und Detektionseinheit vorbei rotiert werden.

Es war daher die Aufgabe der vorliegenden Erfindung, ein System zur Durchführung von chemischen Reaktionen wie der PCR und/oder der Erfassung von Proteinen und/oder der Erfassung von Antigen/Antikörperkomplexen und anschliessenden Erfassung des Reaktionsprodukts bereitzustellen, mit dessen Hilfe auf einfache Weise mehrere Reaktionsmischungen gleichzeitig bearbeitet und ausgewertet werden können.

Diese Aufgabe wird erfindungsgemäss durch eine Reaktionsvorrichtung und ein Gerät gemäss den unabhängigen Ansprüchen gelöst.

Das erfindungsgemässe System zur Durchführung chemischer Reaktionen umfasst eine Reaktionsvorrichtung, die in ein Gerät mit optischen Vorrichtungen und Steuereinheit eingeführt werden kann. Die Reaktionsvorrichtung kann ausserhalb oder innerhalb des Geräts mit der zu bearbeitenden und analysierenden Reaktionsmischung befüllt werden. Befindet sich die Reaktionsvorrichtung nicht bereits im Gerät, wird die Reaktionsvorrichtung nach dem Befüllen in das Gerät eingeführt, um die chemische Reaktion durchzuführen und das Reaktionsprodukt zu analysieren.

Die vorliegende Erfindung wird nachstehend anhand von nicht einschränkenden Zeichnungen näher erläutert. Es zeigen:

Fig. 1: Eine schematische Ansicht einer Ausführungsform der Probenkammermatrix der erfindungsgemässen Reaktionsvorrichtung.

Fig. 2: Eine schematische Seitenansicht einer Ausführungsform der erfindungsgemässen Reaktionsvorrichtung.

Fig. 3: Eine schematische Ansicht einer Ausführungsform der Aufheizeinrichtung und Temperaturmesseinrichtung der erfindungsgemässen Reaktionsvorrichtung.

Fig. 4: Eine schematische Seitenansicht einer Ausführungsform der erfindungsgemässen Reaktionsvorrichtung in einem Gehäuse.

Fig. 5: Eine schematische Ansicht einer Ausführungsform des erfindungsgemässen Geräts.

Fig. 6: Eine schematische Ansicht des Aufbaus einer Ausführungsform des erfindungsgemässen Geräts.

Fig. 7: Eine schematische Ansicht des Aufbaus einer weiteren Ausführungsform des erfindungsgemässen Geräts.

Fig. 8: Den in Beispiel 1 durchgeführten Temperaturcyclus.

Fig. 9: Den Graph der negativen ersten Ableitung ( $-dF/dT$ ) der Fluoreszenzmesskurve gemäss Beispiel 1 für die Reaktionsmischung mit DNA des Bakteriums *Escherichia coli*.

Fig. 10: Den Graph der negativen ersten Ableitung ( $-dF/dT$ ) der Fluoreszenzmesskurve gemäss Beispiel 1 für die Reaktionsmischung mit DNA des Bakteriums *Streptococcus pneumoniae*.

Die vorliegende Erfindung betrifft eine Reaktionsvorrichtung, umfassend eine Probenkammermatrix (1), enthaltend mindestens zwei Reaktionskammern (2), deren Deckflächen sowie die einer Lichtquelle (24, 25) oder einer benachbarten Reaktionskammer zugewandte Seitenwände für elektromagnetische Strahlung in einem für Fluoreszenzmessung erforderlichen Bereich durchlässig sind; sowie mindestens eine Öffnung (3). Die Lichtquellen werden gemäss einer Ausführungsform der vorliegenden Erfindung so ausgewählt, dass sie Elektromagnetische Strahlung mit einer Wellenlänge von einschliesslich 400 nm bis einschliesslich 700 nm emittieren. Gemäss einer weiteren

Ausführungsform der vorliegenden Erfindung werden als Lichtquellen Laser verwendet, die eine zur Anregung einer Fluoreszenzemission geeignete elektromagnetische Strahlung emittieren.

Die Reaktionsvorrichtung gemäss der vorliegenden Erfindung stellt ein Mehrkammersystem bereit, das auf einfache Weise die gleichzeitige Durchführung von chemischen Reaktionen in mehreren Kammern und eine Detektion der Kammerinhalte mehrerer Kammern ermöglicht. Dies wird erfindungsgemäss dadurch erreicht, dass die Deckflächen sowie die einer Lichtquelle oder einer benachbarten Reaktionskammer zugewandten Seitenwände der Reaktionskammern für elektromagnetische Strahlung in einem für Fluoreszenzmessung erforderlichen Bereich durchlässig sind. Die Reaktionskammern können mit Hilfe der integrierten Heizeinrichtung und/oder Temperaturmessseinrichtung schnell, kontrolliert und präzise erwärmt werden. Durch die Bereitstellung einer integrierten Abkühleinrichtung (13) ist ebenfalls eine schnelle und präzise Abkühlung der Reaktionsvorrichtung und der Reaktionsmischungen möglich.

Die vorliegende Erfindung umfasst weiterhin ein Gerät zur Durchführung und Detektion chemischer Reaktionen, umfassend

- a) mindestens zwei Lichtquellen, welche elektromagnetische Strahlung in einem für Fluoreszenzmessung erforderlichen Bereich emittieren;
- b) eine Erfassungseinheit zur Erfassung von elektromagnetischer Strahlung in einem für Fluoreszenzmessung erforderlichen Bereich, wobei diese Einheit im rechten Winkel zu den mindestens zwei Lichtquellen angeordnet ist;
- c) eine Steuereinheit umfassend eine Zentraleinheit zur Steuerung der Temperatur und den mindestens zwei Lichtquellen sowie eine Signalverarbeitungseinheit zur Aufnahme und Verarbeitung eines Signals von der Erfassungseinheit;
- d) eine Öffnung zur Aufnahme der vorstehenden Reaktionsvorrichtung, wobei die Reaktionsvorrichtung sich in der Ebene der mindestens zwei Lichtquellen und unterhalb der Erfassungseinheit befindet.

Durch die Anordnung und Steuerung des optischen Systems im Gerät ist eine Bearbeitung und Auswertung selbst von Reaktionsmischungen mit sehr geringem Volumen möglich.

Mit diesem Gerät kann beispielsweise ein Verfahren zur Durchführung einer fluorometrisch auswertbaren Reaktion ausgeführt werden, enthaltend die Schritte

- a) Bereitstellung von Reaktionsmischungen, in denen fluoreszierende Bestandteile enthalten sind oder im Verlauf der chemischen Reaktion gebildet werden;
- b) Durchführung der chemischen Reaktion durch Einstellung mindestens einer Reaktionstemperatur in den Reaktionsmischungen;
- c) Anregung der Reaktionsmischungen durch elektromagnetische Strahlung in einem für Fluoreszenzmessung erforderlichen Bereich;
- d) Fluorometrische Auswertung der Reaktionsmischungen durch Messung der emittierten Fluoreszenzstrahlung;

dadurch gekennzeichnet, dass in Schritt c) wenigstens zwei Reaktionsmischungen gleichzeitig durch die elektromagnetische Strahlung angeregt werden und in Schritt d) gleichzeitig die emittierte Fluoreszenzstrahlung dieser Reaktionsmischungen erfasst und ausgewertet wird.

Dies ist gemäss der vorliegenden Erfindung dadurch möglich, dass die Reaktionsmischungen in Schritt c) mit elektromagnetischer Strahlung unterschiedlicher Intensität angeregt werden, so dass die Intensität der von den Reaktionsmischungen emittierten Fluoreszenzstrahlung unterschiedlich ist und die Reaktionsmischungen aufgrund unterschiedlicher Signalintensität selektiv auswertbar sind.

Eine weitere erfindungsgemässe Möglichkeit zur selektiven Auswertung des Inhalts einer Reaktionskammer besteht darin, dass Reaktionsmischungen mit fluoreszierenden Bestandteilen ausgewählt werden, die bei unterschiedlichen Frequenzen Fluoreszenzstrahlung emittieren, so dass die Reaktionsmischungen aufgrund unterschiedlicher Signalfrequenz selektiv auswertbar sind.

Die nachstehenden Erläuterungen beziehen sich auf die vorliegende Erfindung im Allgemeinen und sind nicht auf die in den Figuren gezeigten Ausführungsformen eingeschränkt.

In Fig. 1 ist eine schematische Ansicht einer Ausführungsform der Probenkammermatrix der erfindungsgemässen Reaktionsvorrichtung gezeigt. Die Probenkammermatrix (1)

umfasst mindestens zwei Reaktionskammern (2). In der in Fig. 1 gezeigten Ausführungsform sind der Probenkammermatrix (1) vier Reaktionskammern (2) vorgesehen. Die Zahl der Reaktionskammern in der Probenkammermatrix ist grundsätzlich nach oben nur durch die physikalischen Parameter des erfindungsgemässen Systems eingeschränkt (Signal-Rausch-Abstand des erhaltenen Signals, Fokussierung des einfallenden und abgestrahlten Lichts). Erfindungsgemäss bevorzugt ist die Bereitstellung von 2 bis 16 Reaktionskammern (2), insbesondere von mindestens drei Reaktionskammern (2) in der Probenkammermatrix (1), um die gleichzeitige Bearbeitung und Analyse einer Testprobe, einer Positivprobe und einer Negativprobe zu ermöglichen. Erfindungsgemäss bevorzugt ist aus herstellungstechnischen Gründen zudem eine Anzahl von Reaktionskammern (2), die ein quadratisches Array von Reaktionskammern (2) bilden, oder eine einzige Reihe von Reaktionskammern (2).

Die Reaktionsvorrichtung gemäss der vorliegenden Erfindung stellt ein Mehrkammersystem bereit, das auf einfache Weise eine Detektion der Kammerinhalte ermöglicht. Dies wird erfindungsgemäss dadurch erreicht, dass die Deckflächen sowie die einer Lichtquelle (24, 25) oder einer benachbarten Reaktionskammer zugewandten Seitenwände der Reaktionskammern (2) für elektromagnetische Strahlung in einem für Fluoreszenzmessung erforderlichen Bereich durchlässig sind. Es ist daher gemäss der vorliegenden Erfindung nicht notwendig, Fenster oder Löcher in den Wänden der Reaktionskammern (2) vorzusehen, durch welche elektromagnetische Strahlung eingestrahlt und herausgestrahlt werden kann. Auf diese Weise ist es möglich, dass die von einer einzigen Lichtquelle emittierte elektromagnetische Strahlung durch alle im Bezug zur Lichtquelle in einer Reihe angeordneten Reaktionskammern (2) geleitet werden kann. Bei der in Fig. 1 gezeigten Probenkammermatrix (1) sind die Reaktionskammern (2) in vertikalen und horizontalen Reihen zueinander angeordnet. Die Reaktionskammern (2) werden durch zwei im rechten Winkel zueinander angeordneten Reihen von (im Fall von Fig. 1 jeweils 2) Lichtquellen angestrahlt. Durch eine derartige Anordnung kann man die einzelnen Reaktionskammern (2) wie nachstehend beschrieben selektiv durchleuchten. Eine weitergehende Besprechung der Anordnung der Lichtquellen und der Detektion erfolgt nachstehend unter Bezugnahme auf Fig. 5.

Benachbarte Reaktionskammern (2) in der Probenkammermatrix (1) können jeweils miteinander durch eine Seitenwand verbunden sein. Da diese Seitenwand wie vorstehend ausgeführt für elektromagnetische Strahlung in einem für Fluoreszenzmessung erforderlichen Bereich durchlässig ist, tritt die in die erste Kammer eingestrahlte elektromagnetische Strahlung durch die gemeinsame Wand in die nachfolgende zweite Kammer ein, wenn die benachbarten Kammern in einer Reihe in Bezug zu einer Lichtquelle angeordnet sind. Es ist jedoch auch erfindungsgemäss möglich, dass zwischen benachbarten Reaktionskammern (2) in der Probenkammermatrix (1) ein Freiraum vorhanden ist. In einen derartigen Freiraum können Einrichtungen vorgesehen werden, die einen Durchtritt des eingestrahlten Lichts von der ersten Kammer in die benachbarte zweite Kammer verändern, beispielsweise abschwächen, oder verhindern. Bei einer derartigen Einrichtung kann es sich beispielsweise um Filter oder um Luftkanäle handeln. Möglich ist aber auch die Bereitstellung einer Einrichtung in dem Freiraum, durch welche die einfallende Strahlung verstärkt wird. Es kann sich hierbei um Spiegel oder Prismen handeln.

Die Probenkammermatrix (1) weist mindestens eine Öffnung (3) auf. Durch diese Öffnung (3) können die Reaktionskammern (2) befüllt beziehungsweise entlüftet werden. Die Reaktionskammern (2) stehen mit der Öffnung (3) über ebenfalls in der Probenkammermatrix befindliche Kanäle (4) in Verbindung. Es können mehrere Öffnungen (3) vorgesehen sein, um entweder ein separates Befüllen und Entlüften aller Reaktionskammern (2) zu ermöglichen, oder um die Reaktionskammern (2) unabhängig voneinander zu befüllen bzw. zu entlüften.

Bei der in Fig. 1 gezeigten Anordnung sind alle Reaktionskammern (2) durch Kanäle (4) mit einer Öffnung (3) verbunden. Um ein separates Befüllen bzw. Entlüften der einzelnen Reaktionskammern zu ermöglichen, können in den Kanälen (4) Regler vorgesehen sein, durch welche bestimmte Kanäle geöffnet beziehungsweise geschlossen werden können.

Die Reaktionskammern sind vorzugsweise derart dimensioniert, dass sie Reaktionsmischungen mit einem Volumen im Bereich von einschliesslich 100 nl bis einschliesslich 2 µl aufnehmen können.

Eine oder mehrere der Reaktionskammern (2) können gemäss der vorliegenden Erfindung bereits eine oder mehrere chemische Substanzen enthalten, bevor sie über die Öffnung(en) (3) zusätzlich mit der zu bearbeitenden und analysierenden Reaktionsmischung befüllt werden. Vorzugsweise handelt es sich hierbei um chemische Trockensubstanzen, beispielsweise um Feststoffe oder um gefriergetrocknete Substanzen. Mit Hilfe dieser zusätzlichen Substanzen ist es möglich, die zu bearbeitende und analysierende Reaktionsmischung in verschiedenen Reaktionskammern (2) unterschiedlich zu behandeln und auf diese Weise unterschiedliche Parameter der Reaktionsmischung zu bestimmen.

In Fig. 2 ist eine schematische Seitenansicht einer Ausführungsform der erfindungsgemässen Reaktionsvorrichtung gezeigt. In der in Fig. 2 gezeigten Ausführungsform ist eine Probenkammermatrix (1) mit Reaktionskammern (2), einer Öffnung (3) und Kanälen (4) zur Verbindung der Öffnung (3) mit den Reaktionskammern (2) in einem Körper (1') ausgebildet, der für elektromagnetische Strahlung in einem für Fluoreszenzmessung erforderlichen Bereich durchlässig ist. Vorzugsweise ist dieser Körper (1') ein Formstück aus Glas. Andere Materialien, die für elektromagnetische Strahlung in einem für Fluoreszenzmessung erforderlichen Bereich durchlässig sind, können jedoch auch verwendet werden. Beispielsweise seien Kunststoffmaterialien wie Acrylglas oder Polycarbonat genannt. In den Körper (1') sind die Reaktionskammern (2), die Öffnung (3) und Kanäle (4) zur Verbindung der Öffnung (3) mit den Reaktionskammern (2) eingearbeitet. Dieser Vorgang kann auf herkömmliche, dem Fachmann bekannte Art durchgeführt werden. Beispielsweise können die entsprechenden Teile (2) bis (4) mechanisch in den Körper (1') eingearbeitet werden, zum Beispiel durch Schneiden. Erfindungsgemäss bevorzugt werden die Teile (2) bis (4) jedoch chemisch durch Ätzen des Körpers (1') eingearbeitet. Gemäss der vorliegenden Erfindung weist der Körper (1') vorzugsweise eine Dicke von 500-600  $\mu\text{m}$  auf.

In der in Fig. 2 gezeigten Ausführungsform sind die Reaktionskammern (2) derart eingearbeitet, dass zwischen benachbarten Reaktionskammern eine Seitenwand bestehend aus dem Material des Körpers (1') vorhanden ist. Es ist wie vorstehend ausgeführt jedoch auch möglich, Teile des Körpers (1') aus dem Zwischenraum zwischen benachbarten Reaktionskammern (2) zu entfernen und so einen Freiraum zu schaffen.

Der Körper (1') mit der Probenkammermatrix (1) ist über eine dünne Schicht (5) aus elastischem Kunststoff, beispielsweise einem gummiartigen Material wie Silikongummi, mit einer Schicht (6) aus einem wärmeleitenden Material verbunden. Die Schicht (6) sollte eine möglichst gute Wärmeleitfähigkeit aufweisen, da über die Schicht (6) die in der Heizschicht (8) erzeugte Wärme auf die Reaktionskammern (2) übertragen wird. Vorzugsweise besteht die Schicht (6) aus Silicium oder um wärmeleitfähige Siliciumverbindungen. Gemäss der vorliegenden Erfindung weist die Schicht (6) vorzugsweise eine Dicke von maximal 500  $\mu\text{m}$  auf.

Die Schicht (6) ist über eine dünne Schicht (7) mit einer Schicht (11) aus isolierendem Material verbunden. Die Schicht (7) gewährleistet die Verbindung der Schicht (6) mit der Schicht (11), ohne die Wärmeübertragung innerhalb der Reaktionsvorrichtung wesentlich zu beeinflussen. Die Schicht (7) besteht aus einem Klebstoff. Die genaue Beschaffenheit der Schicht (7) kann vom Fachmann anhand der Materialien der zu verbindenden Schichten auf einfache Weise gemäss seinem Fachwissen ausgewählt werden. Beispielsweise kann zum Verbinden einer Schicht (6) aus Silicium mit einer Schicht (11) aus Glas ein UV-härtbarer Klebstoff, beispielsweise ein Kunststoff auf Acrylatbasis, als Material für die Schicht (7) verwendet werden.

Die Heizschicht (8) dient zum Erwärmen der Reaktionskammern (2). Die Heizschicht (8) wird nachstehend unter Bezugnahme auf Fig.3 näher erläutert. Sie bildet eine in die Reaktionsvorrichtung integrierte Heizeinrichtung und/oder Temperaturmesseinrichtung. Die Reaktionskammern (2) können mit Hilfe der integrierten Heizeinrichtung und/oder Temperaturmesseinrichtung kontrolliert und präzise erwärmt werden. Hierbei wird nicht die gesamte Reaktionsvorrichtung erhitzt, sondern lediglich der oberhalb der integrierten Heizeinrichtung und/oder Temperaturmesseinrichtung befindliche Teil. Dies erlaubt ein deutlich schnelleres und präziseres Aufheizen der Reaktionskammern (2) im Vergleich zu herkömmlichen Systemen. Die Heizschicht (8) ist auf der Oberfläche der Schicht (11) angeordnet. Erfindungsgemäss bevorzugt ist die Schicht (8) aus einem Metall, beispielsweise aus Kupfer oder einem Edelmetall wie Platin gefertigt. Gemäss der vorliegenden Erfindung weist die Schicht (8) vorzugsweise eine Dicke von 500 nm-1  $\mu\text{m}$  auf.

In der Heizschicht (8) sind auch die Kontakte (9) der Heizeinrichtung sowie die Kontakte (10) der Temperaturmesseinrichtung angeordnet. Diese Kontakte dienen zur Herstellung einer Verbindung der Reaktionsvorrichtung mit der Steuereinheit des restlichen Geräts, wenn die Reaktionsvorrichtung in das Gerät eingeführt ist. In Fig. 2 sind jeweils zwei Kontakte (9) und (10) gezeigt. Die vorliegende Erfindung ist jedoch nicht auf diese Zahl von Kontakten eingeschränkt. Die Art der Kontakte kann vom Fachmann anhand der exakten Anforderungen problemlos ausgewählt werden. Beispielsweise kann es sich in manchen Fällen als vorteilhaft erweisen, die Kontakte als Kontaktfedern auszubilden.

Die Heizschicht (8) ist wie bereits ausgeführt teilweise auf der Oberfläche der Schicht (11) ausgebildet. Die Schicht (11) besteht aus einem wärmeisolierenden Material, beispielsweise aus Glas. Dadurch wird verhindert, dass die in der Schicht (8) erzeugte Wärme auch auf andere Bereiche der Reaktionsvorrichtung als auf die Reaktionskammern (2) übertragen wird. Gemäss der vorliegenden Erfindung weist die Schicht (11) vorzugsweise eine Dicke von 500  $\mu\text{m}$ -2 mm auf.

Die Schicht (11) befindet sich auf einem Träger (12). Dieser Träger (12) ist aus einem herkömmlich für diese Zwecke verwendeten Material gefertigt.

Unterhalb des Trägers (12) ist eine Abkühleinrichtung (13) zum Abkühlen der Reaktionsvorrichtung angeordnet. Erfindungsgemäss kann jede herkömmlich für derartige Anwendungen eingesetzte Abkühleinrichtung (13) verwendet werden. Bevorzugt ist die Verwendung eines Peltier-Kühlelements als Abkühleinrichtung (13). Durch die Bereitstellung einer integrierten Abkühleinrichtung (13) ist ebenfalls eine schnelle und präzise Abkühlung der Reaktionsvorrichtung möglich.

Die mindestens eine Öffnung (3) wird erfindungsgemäss bevorzugt nach dem Einfüllen der Reaktionsmischung verschlossen, um eine Kontamination des Reaktionsgemisches zu verhindern. Hierzu sind grundsätzlich alle bekannten Verschlussysteme geeignet. In Fig. 2 ist eine Verschlussklappe (14) gezeigt. An der Unterseite der Verschlussklappe (14) ist ein Block (15) angebracht. Dieser Block (15) besteht aus einem Material mit möglichst geringer Wärmeleitfähigkeit. Dadurch wird die Reaktionsvorrichtung von der Umgebung thermisch entkoppelt. Eine exakte Kontrolle der Temperatur in den Reakti-

onskammern (2) kann somit gewährleistet werden. Auf der zur Öffnung (3) hin gewandten Oberfläche des Blocks (15) ist eine Schicht (16) zur Abdichtung der Öffnung (3) angebracht. Diese Schicht (15) kann aus jedem herkömmlichen Dichtmaterial gefertigt sein, beispielsweise aus Gummi. Sie muss gewährleisten, dass selbst bei erhöhten Temperaturen keine Flüssigkeit oder kein Gas aus den Reaktionskammern (2) austreten kann.

In Fig. 3 ist eine schematische Ansicht einer Ausführungsform der Aufheizeinrichtung (8a) und Temperaturmessenrichtung (8b) der erfindungsgemässen Reaktionsvorrichtung gezeigt. Die Aufheizeinrichtung (8a) und Temperaturmessenrichtung (8b) sind wie vorstehend ausgeführt in der Heizschicht (8) angeordnet. Erfindungsgemäss bevorzugt sind die Aufheizeinrichtung (8a) und Temperaturmessenrichtung (8b) jeweils als Widerstände ausgebildet. Sie sind in Form schleifenförmiger Leitungsbahnen auf oder in der Heizschicht (8) angeordnet. Wenn die Aufheizeinrichtung (8a) ein Heizwiderstand ist, sollte sie aus einem Material mit einem möglichst kleinen Widerstand gefertigt sein. Andererseits sollte die Temperaturmessenrichtung (8b), wenn sie als Widerstand ausgebildet ist, aus einem Material mit einem möglichst grossen Widerstand gefertigt sein. Vorzugsweise sind diese Leitungsbahnen aus einem Metall, beispielsweise Kupfer oder einem Edelmetall wie Platin gefertigt. Besonders bevorzugt sind Aufheizeinrichtung (8a) und Temperaturmessenrichtung (8b) aus dem gleichen Material, beispielsweise Kupfer oder einem Edelmetall wie Platin gefertigt. Dies ist aus herstellungstechnischen Gründen bevorzugt. In diesem Fall stellt das verwendete Material einen Kompromiss zwischen den unterschiedlichen vorstehend ausgeführten Anforderungen dar. Die Aufheizeinrichtung (8a) und Temperaturmessenrichtung (8b) können nach üblichen Methoden, beispielsweise durch Ätzen, in der Heizschicht (8) ausgebildet werden. Die Leitungsbahnen, welche den Heizwiderstand (8a) beziehungsweise den Temperaturmesswiderstand (8b) bilden, enden in den jeweiligen Kontakten (9) und (10). Wenn die Reaktionsvorrichtung in das restliche Gerät eingeführt ist, sind der Heizwiderstand (8a) beziehungsweise den Temperaturmesswiderstand (8b) über die Kontakte (9) und (10) mit der Steuereinheit verbunden.

Es ist gemäss der vorliegenden Erfindung aber auch grundsätzlich denkbar, eine Reaktionsvorrichtung bereitzustellen, bei welcher verschiedene Teile der Reaktionsvorrich-

tung mit separaten Heizeinrichtungen angesteuert werden. Dies ermöglicht ein selektives und kontrolliertes Erwärmen einzelner Teile der Reaktionsvorrichtung.

Die Reaktionsvorrichtung kann gemäss der vorliegenden Erfindung eine Codierung enthalten. In dieser Codierung ist die Information enthalten, ob und für welche chemische Reaktion beziehungsweise Target die Reaktionsvorrichtung spezifisch bereitgestellt ist. Dies ist beispielsweise dann sinnvoll, wenn in den Reaktionskammern zusätzliche chemische Substanzen vorgegeben sind.

Die Herstellung der Reaktionsvorrichtung kann nach herkömmlichen, dem Fachmann bekannten Methoden erfolgen.

In Fig. 4 ist eine erfindungsgemäss Ausführungsform der Reaktionsvorrichtung gezeigt, bei der die Reaktionsvorrichtung in einem Gehäuse (19) angeordnet ist. Das Gehäuse (19) ist über ein Gelenk (18) mit einer Verschlussklappe (17) verbunden. An der Unterseite der Verschlussklappe (17) sind der vorstehend beschriebene Block (15) und die Dichtungsschicht (16) befestigt. Wenn die Verschlussklappe (17) in Schliessstellung gebracht ist, wird die Öffnung (4) der Probenkammermatrix (1) durch den Block (15) und die Dichtungsschicht (16) verschlossen. In der Verschlussklappe (17) ist weiterhin ein Fenster aus einem für elektromagnetische Strahlung in einem für Fluoreszenzmessung erforderlichen Bereich durchlässigen Material beziehungsweise eine Öffnung (20) vorhanden. Wenn die Verschlussklappe (17) in Schliessstellung gebracht ist, befindet sich das Fenster beziehungsweise die Öffnung (20) direkt über den Reaktionskammern (2). Dadurch kann elektromagnetische Strahlung aus den Reaktionskammern (2) durch das Fenster beziehungsweise die Öffnung (20) in eine oberhalb des Fensters beziehungsweise der Öffnung (20) befindliche Erfassungseinheit einstrahlen.

Die Verschlussklappe (17) kann durch die Halterung (21) fixiert werden. Die Fixierung kann auf jegliche hierfür herkömmlich verwendete Art erfolgen. In Fig. 4 ist beispielsweise die Halterung (21) im Gelenk (23) beweglich gelagert. Über eine Feder (22) wird die Halterung (21) unter Spannung gehalten. Durch diese Spannung wird eine Fixierung der Verschlussklappe (17) erreicht, wenn diese unter die Halterung (21) gedrückt wird.

Die Reaktionsvorrichtung steht über die Kühleinrichtung (13) mit dem Gehäuse (19) in Verbindung. Auf diese Weise kann in der Reaktionsvorrichtung erzeugte Wärme über die Kühleinrichtung (13) an das Gehäuse (19) abgegeben werden.

In Fig. 5 ist eine schematische Abbildung einer Ausführungsform des erfindungsgemässen Geräts zur Durchführung und Auswertung chemischer Reaktionen gezeigt. Das Gerät weist eine Öffnung (H) zur Aufnahme der vorstehend beschriebenen Reaktionsvorrichtung auf. In Fig. 5 ist die Reaktionsvorrichtung in diese Öffnung (H) eingeführt. Die Reaktionsvorrichtung wird bei dieser Ausführungsform ausserhalb des Geräts mit der zu bearbeitenden und analysierenden Reaktionsmischung befüllt und anschliessend in das Gerät eingeführt. Wie aus Fig. 5 ersichtlich ist die Reaktionsvorrichtung im eingeführten Zustand so angeordnet, dass sich die Lichtquellen (24, 25) des Geräts in einer Ebene mit den Reaktionskammern (2) befinden. Wie vorstehend beschrieben kann mit einer Lichtquelle (24, 25) eine Reihe von Reaktionskammern (2) angesprochen werden, die mit der entsprechenden Lichtquelle (24, 25) eine Linie bilden. Bei einem Array von Reaktionskammern (2), wie das in Fig. 5 gezeigte Array von 4 Reaktionskammern (2), sind erfindungsgemäss zwei Reihen von Lichtquellen (24) und (25) vorgesehen. Diese Reihen von Lichtquellen (24) und (25) sind im rechten Winkel zueinander derart angeordnet, dass jede Reaktionskammer (2) sich im Schnittpunkt der Strahlung aus zwei jeweils rechtwinklig zueinander angeordneten Lichtquellen (24) und (25) befindet.

Die im Schnittpunkt der Strahlung zweier aktivierter Lichtquellen (24, 25) befindliche Reaktionskammer (2) ist jeweils für den entsprechenden Analysevorgang ausgewählt. Es werden hierbei grundsätzlich aber auch die ebenfalls im Strahlungsbereich der Lichtquellen (24, 25) befindlichen anderen Reaktionskammern (2) durchleuchtet. Diese anderen Reaktionskammern (2) können hierbei ebenfalls zur Emission von Fluoreszenzstrahlung angeregt werden. Die Erfassungseinheit (28) erfasst hierbei die von allen angeregten Reaktionsmischungen emittierte Fluoreszenzstrahlung. Die von den Reaktionsmischungen emittierte Fluoreszenzstrahlung unterscheidet sich jedoch hinsichtlich der Intensität. Wenn die von der Lichtquelle (24, 25) ausgesendete Strahlung durch die erste im Strahlungsgang befindliche Reaktionskammer gelangt, erfährt sie aufgrund von Wechselwirkungen mit dem Inhalt der Reaktionskammer (2) eine Abschwächung (Dämpfung). Beim Durchtritt durch die Verbindungswand zur nächsten benachbarten

Reaktionskammer (2) kommt es zu einer weiteren Abschwächung (Dämpfung) der Anregungsstrahlung der Lichtquellen (24, 25). Diese Abschwächung kann noch zusätzlich verstärkt werden, wenn bei einer Ausführungsform der vorliegenden Erfindung zwischen den benachbarten Reaktionskammern (2) ein Freiraum vorgesehen ist, in dem beispielsweise Luft oder Filter bereitgestellt sind.

Die von der Erfassungseinheit (28) empfangenen Signale unterschiedlicher Intensität können bei der rechnerischen Auswertung voneinander getrennt werden. Wenn  $n$  Reaktionskammern (2) in einer Probenkammermatrix (1) angeordnet sind und an den Kanten der Probenkammermatrix (1) zwei rechtwinklig zueinander angeordnete Reihen von Lichtquellen (24, 25) vorhanden sind, wobei die Zahl der Lichtquellen  $j$  und  $k$  und  $n=j*k$  sein soll, ist die Anregung der Reaktionskammern (2) so zu steuern, dass jede Reaktionskammer (2) einmal gleichzeitig von zwei Lichtquellen (24, 25) angeregt wird. Bei jeder Belichtung wird mit der Erfassungseinheit (28) ein Messwert aufgenommen. Dabei nimmt die Erfassungseinheit (28) die Summe aller Signale der angeregten Reaktionskammern (2) auf, wobei das Signal der im Schnittpunkt der Strahlengänge der Lichtquellen (24, 25) befindlichen Reaktionskammer (2) am stärksten ist. Wie vorstehend beschrieben ist zu berücksichtigen, dass ein Teil der Strahlung der Lichtquellen (24, 25) von näher im Strahlengang zur Lichtquelle (24, 25) befindlichen Reaktionskammern und/oder den Seitenwänden absorbiert wird. Die Signale aus den Reaktionskammern (2) werden also um so kleiner, je weiter sie von der Lichtquelle (24, 25) entfernt sind. Es lässt sich aufgrund dieser Voraussetzungen ein lineares Gleichungssystem für alle Reaktionskammern (2) und Signale aufstellen und daraus die Signalintensität jeder einzelnen Reaktionskammer (2) berechnen.

Bei einer Probenkammermatrix (1) mit  $3*3$  Reaktionskammern (2), d.h. mit drei Reihen zu je 3 Reaktionskammern (2), seien am Rand Lichtquellen (24) in der Zeile  $h$  und rechtwinklig dazu Lichtquellen (25) in der Kolonne  $v$  angeordnet. Werden nur die Lichtquelle  $j$  in der Zeile  $h$  und die Lichtquelle  $k$  in der Kolonne  $v$  aktiviert, produzieren die Reaktionskammern das Summensignal  $s_{jk}$ . Dabei ist (1-a) der Absorptionskoeffizient für die in der 2. Reihe angeordneten Reaktionskammern und (1-b) der Absorptionskoeffizient für die in der dritte Reihe angeordneten Kammern. Es ergibt sich dadurch ein Satz von 9 Gleichungen der Art:

$$x_{j1} + ax_{j2} + bx_{j3} + x_{1k} + ax_{2k} + bx_{3k} = s_{jk}$$

.....

Die neun Gleichungen lassen sich wie folgt ausdrücken:

$$\underline{A} \cdot \underline{x} = \underline{s}$$

Durch Multiplikation mit der Inversen der Matrix A auf beiden Seiten der Gleichung lässt sich die Signalintensität x jeder einzelnen Reaktionskammer (2) berechnen. Somit ist eine selektive Auswertung einer bestimmten Reaktionsmischung in einer bestimmten Reaktionskammer (2) möglich.

Die selektive Auswertung einer bestimmten Reaktionsmischung in einer bestimmten Reaktionskammer (2) ist aber auch dadurch möglich, dass in den Reaktionsmischungen in den verschiedenen Reaktionskammern (2) Bestandteile vorhanden sind, die Fluoreszenzstrahlung unterschiedlicher Frequenz emittieren. Beim Einstrahlen von elektromagnetischer Strahlung einer definierten Frequenz wird dadurch ausschliesslich eine der mehreren Reaktionsmischungen zur Emission von Fluoreszenzstrahlung angeregt.

Eine weitere erfindungsgemässe Methode zur selektiven Auswertung einer bestimmten Reaktionsmischung in einer bestimmten Reaktionskammer (2) besteht darin, in einer oder mehreren Reaktionskammern (2) die Emission von Fluoreszenzstrahlung durch Fluoreszenzlöschung zu verhindern. Dies kann beispielsweise durch Zugabe von Substanzen erfolgen, auf die aufgrund von Stosseffekten die von den fluoreszierenden Bestandteilen der Reaktionsmischung aufgenommene Anregungsenergie übertragen wird, ohne dass es zur Emission von Fluoreszenzstrahlung kommt.

Gemäss einer weiteren Ausführungsform der vorliegenden Erfindung umfasst die Reaktionsvorrichtung (R) eine Probenkammermatrix (1), welche nur eine einzige Reihe von Reaktionskammern (2) enthält. In diesem Fall ist es erfindungsgemäss bevorzugt, eine der Reihe von Reaktionskammern entsprechende Reihe von Lichtquellen (24) bereitzustellen. Bei dieser Ausführungsform ist also jeder Reaktionskammer (2) eine einzige Lichtquelle (24) zugeordnet. Bei einer aus drei Reaktionskammern (2) bestehenden Reihe wird also eine Reihe von drei Lichtquellen (24) vorgesehen. Die Reihen aus Reakti-

onskammern (2) und Lichtquellen (24) sind parallel zueinander angeordnet, wobei jeweils eine bestimmte Reaktionskammer (2) nur im Strahlengang einer einzigen Lichtquelle (24) liegt. Durch Aktivierung dieser bestimmten Lichtquelle (24) wird nur die dieser Lichtquelle (24) zugeordnete Reaktionskammer (2) durchleuchtet. Somit ist eine selektive Analyse des Inhalts dieser Reaktionskammer (2) möglich.

Erfindungsgemäss bevorzugt werden monochromatische Lichtquellen, insbesondere Leuchtdioden (LEDs) oder Laser, als Lichtquellen (24, 25) eingesetzt. Laser sind aufgrund ihrer vorteilhaften optischen Eigenschaften (z.B. Emission von Licht einer engen Wellenlängenbreite) bevorzugt. Die Zahl der Lichtquellen ist von der Zahl der Reaktionskammern (2) in der Reaktionsvorrichtung abhängig, wobei im Fall eines Reaktionskammerarrays jede Reaktionskammer (2) von zwei Lichtquellen (24, 25) und im Fall einer einzigen Reihe von Reaktionskammern (2) vorzugsweise jede Reaktionskammer (2) von einer Lichtquelle (24, 25) angestrahlt werden. Die Lichtquellen werden erfindungsgemäss beispielsweise so ausgewählt, dass sie elektromagnetische Strahlung mit einer Wellenlänge von einschliesslich 400 nm bis einschliesslich 700 nm emittieren. Grundsätzlich kann die Anregung aber auch mit elektromagnetischer Strahlung einer kleineren Wellenlänge erfolgen. Bei Verwendung von Lasern kann die von den Lichtquellen emittierte Strahlung beispielsweise auch Wellenlängen von beispielsweise 200 nm aufweisen.

In der Linie zwischen den Lichtquellen (24, 25) und den Reaktionskammern (2) können Filter (26, 27) angeordnet sein, um die in die Reaktionskammern (2) einfallende elektromagnetische Strahlung gezielt auszuwählen und einzustellen. Vorzugsweise handelt es sich hierbei um Band-Pass-Filter, beispielsweise Interferenzfilter, die nur elektromagnetische Strahlung mit bestimmten Wellenlängen in die Reaktionskammern (2) gelangen lassen. Erfindungsgemäss bevorzugt sind die Filter (26, 27) so konstruiert, dass sie nur elektromagnetische Strahlung passieren lassen, die eine von der von den Reaktionsmischungen emittierten Fluoreszenzstrahlung verschiedene Frequenz aufweist. Damit wird verhindert, dass irrtümlicherweise Strahlung aus den Lichtquellen mit der Frequenz der von den Reaktionsmischungen emittierten Fluoreszenzstrahlung in die Erfassungseinheit (28) gelangt und dort als Signal ausgewertet wird.

Wenn die Reaktionsvorrichtung in das Gerät eingeführt ist, befinden sich die Reaktionskammern (2) direkt unterhalb einer Erfassungseinheit (28). Die Erfassungseinheit (28) ist somit jeweils rechtwinklig zu den Lichtquellen (24, 25) oberhalb von diesen angeordnet. Dadurch gelingt die von den Lichtquellen (24, 25) emittierte Elektromagnetische Strahlung nicht in die Erfassungseinheit (28). Diese fängt ausschliesslich die aus den Reaktionskammern (2) emittierte Elektromagnetische Strahlung auf.

Die Erfassungseinheit (28) ist erfindungsgemäss bevorzugt ein Photonenzählmodul. Es können jedoch auch andere bei der Fluoreszenzmessung verwendete Detektorsysteme eingesetzt werden.

Zwischen der Erfassungseinheit und den Reaktionskammern (2) ist vorzugsweise eine Linse (29) angeordnet. Diese dient zur Fokussierung der aus den Reaktionskammern emittierten Strahlung auf die Erfassungseinheit (28).

In der Linie zwischen der Erfassungseinheit (28) und den Reaktionskammern (2) können ebenfalls ein oder mehrere Filter (30) angeordnet sein, um die aus den Reaktionskammern (2) emittierte Elektromagnetische Strahlung gezielt auszuwählen und selektiv auszuwerten. Vorzugsweise handelt es sich hierbei um Band-Pass-Filter, beispielsweise Interferenzfilter, die nur elektromagnetische Strahlung mit bestimmten Wellenlängen in die Erfassungseinheit (28) gelangen lassen. Erfindungsgemäss bevorzugt ist der Filter (30) so konstruiert, dass er nur elektromagnetische Strahlung passieren lässt, die eine von der von den Lichtquellen (24, 25) ausgesendeten Strahlung verschiedene Frequenz aufweist. Damit wird verhindert, dass irrtümlicherweise Strahlung direkt aus den Lichtquellen (24, 25) in die Erfassungseinheit (28) gelangt und dort als Signal ausgewertet wird.

Das erfindungsgemässe Gerät umfasst weiterhin eine Steuereinheit. Diese umfasst eine Zentraleinheit, beispielsweise einen Mikroprozessor, mit dem die Lichtquellen (24, 25) aktiviert werden, die Heizeinrichtung (8a) und die Temperaturmesseinrichtung (8b) gesteuert werden. Weiterhin umfasst das Gerät eine Signalverarbeitungseinheit, mit der von der Erfassungseinheit (28) gesendete Signale aufgenommen und verarbeitet werden. Die in die Zentraleinheit und/oder Signalverarbeitungseinheit eingehenden Signale be-

ziehungsweise die von der Zentraleinheit ausgehenden Signale werden gegebenenfalls ausserhalb der Zentraleinheit in Einheiten zur Verstärkung beziehungsweise Modulation von Signalen, beispielsweise in Messverstärkern, Leistungsverstärkern oder Digitalisierungseinheiten, vor dem Eintritt in die Zentraleinheit beziehungsweise nach dem Austritt aus der Zentraleinheit verändert. In der Steuereinheit ist weiterhin eine Software zum Systembetrieb enthalten. Diese Software kann entsprechend den mit dem System durchzuführenden Vorgängen ausgewählt werden.

Die Steuereinheit steht vorzugsweise mit der Heizeinrichtung (8a) und der Temperaturreguleinrichtung (8b) über die Kontakte (9, 10) in Verbindung, wenn sich die Reaktionsvorrichtung in der in das Gerät eingeführten Position befindet.

In dem erfindungsgemässen Gerät kann somit die Temperatur sehr schnell und präzise geregelt werden. Zudem können die Reaktionskammern (29) durch Aktivierung unterschiedlicher Lichtquellen (24, 25) selektiv angesprochen werden. Durch die Anordnung und Steuerung des optischen Systems im Gerät ist eine Bearbeitung und Auswertung selbst von Reaktionsmischungen mit geringem Volumen möglich.

Die Steuereinheit kann zusätzlich eine Eingabevorrichtung, beispielsweise ein Tastaturfeld oder ein Keyboard, und/oder eine Anzeigevorrichtung, beispielsweise einen Monitor oder ein Flüssigkristall-Display umfassen. Über diese Einrichtungen kann das erfindungsgemässe Gerät bedient werden. Die Steuereinheit kann aber auch eine oder mehrere Schnittstellen enthalten. Über diese Schnittstellen kann die Steuereinheit an externe Geräte angeschlossen werden. Beispielsweise kann die Steuereinheit über eine geeignete Schnittstelle mit einem externen Computer verbunden werden, über den das erfindungsgemässe Gerät dann bedient werden kann. Die Steuereinheit kann aber auch über eine geeignete Schnittstelle mit einem Drucker verbunden werden.

Die Steuereinheit kann innerhalb des erfindungsgemässen Geräts angeordnet sein. Wahlweise kann die Steuereinheit aber auch ausserhalb des erfindungsgemässen Geräts bereitgestellt sein. Diese Ausführungsform ist in Fig. 6 gezeigt. Ein Kontrollgerät (31) enthält die Steuereinheit. Zusätzlich enthält das Kontrollgerät (31) ein Tastaturfeld (32) sowie ein Display (33) zur Bedienung. Das Kontrollgerät ist über ein Kabel mit dem

Gerät verbunden, in welchem die Reaktionsvorrichtung eingeführt ist. Das Gerät ist wie in Fig. 5 beschrieben aufgebaut.

Eine weitere Ausführungsform des erfindungsgemässen Systems ist in Fig. 7 gezeigt. Bei dieser Ausführungsform befindet sich die Steuereinheit innerhalb des erfindungsgemässen Geräts. Es ist ein Tastaturfeld (32) sowie ein Display (33) zur Bedienung vorgesehen. Dies ist jedoch nur optional. Ebenso kann das Gerät wie vorstehend beschrieben über geeignete Schnittstellen mit einem externen Computer und/oder einem externen Drucker verbunden werden. Bei dieser Ausführungsform befindet sich die Reaktionsvorrichtung (R) während des Befüllens mit Reaktionsmischung vorzugsweise innerhalb des Geräts. Das Befüllen kann über die zugängliche Öffnung (34) erfolgen. Die Öffnung (34) steht mit den Reaktionskammern der Reaktionsvorrichtung (R) über (nicht gezeigte) Kanäle in Verbindung. Das Gerät ist ansonsten wie in Fig. 5 beschrieben aufgebaut. Die Durchführung der chemischen Reaktion sowie der anschliessenden Auswertung erfolgt wie vorstehend beschrieben. Nach dem Einmalgebrauch kann die Reaktionsvorrichtung (R) durch die Öffnung (35) entnommen und gereinigt oder ausgetauscht werden.

Das erfindungsgemässe System basiert auf einer Fluoreszenzmessung zur Auswertung. Grundsätzlich könnten jedoch auch andere zur Auswertung chemischer Reaktionsmischungen verwendete optische Methoden verwendet werden.

Die erfindungsgemässe Reaktionsvorrichtung ist grundsätzlich für den Einmalgebrauch gedacht. Sie kann aber auch gereinigt und mehrmals verwendet werden.

Mit dem erfindungsgemässen System können chemische Reaktionen durchgeführt und ausgeführt werden. Insbesondere ist das System aus Reaktionsvorrichtung und Gerät zur Durchführung von chemischen Reaktionen geeignet, bei denen kontrollierte Temperaturcyclen durchlaufen werden müssen. Ein Beispiel für eine derartige Reaktion ist die einleitend beschriebene Polymerase-Kettenreaktion (PCR). Mit dem erfindungsgemässen System kann sowohl der Verlauf der Reaktion durch ständige Fluoreszenzmessung als auch das erhaltene Reaktionsprodukt durch Fluoreszenzmessung ausgewertet werden.

Das erfindungsgemässe System kann aber auch ausschliesslich zur Erfassung von Reaktionsmischungen verwendet werden. Wie vorstehend ausgeführt kann mit dem erfindungsgemässen System vorteilhaft eine Messung sehr geringer Volumina ausgeführt werden. Es ist daher auch vorteilhaft, Substanzen in die Reaktionskammern der Reaktionsvorrichtung eingefüllt werden, die ohne Durchführung einer chemischen Reaktion fluorometrisch erfasst werden können, und diese mit dem erfindungsgemässen System auszuwerten.

Zur Durchführung einer chemischen Reaktion wird zunächst die Reaktionsvorrichtung ausserhalb des restlichen Geräts mit der oder den zu bearbeitenden und analysierenden Reaktionsmischungen befüllt. Dies erfolgt üblicherweise, indem man herkömmliche Spritzen mit der oder den zu bearbeitenden und analysierenden Reaktionsmischungen befüllt und den Spritzeninhalt dann in mindestens eine Öffnung (3) einführt. Grundsätzlich sind hierfür aber auch beispielsweise Pipetten, Mikropipetten oder spezielle Kartuschen oder Ink-Jet-Techniken geeignet. Nach dem Befüllen wird die mindestens eine Öffnung (3) wie vorstehend beschrieben verschlossen und die Reaktionsvorrichtung in das Gerät eingeführt.

Im Gerät erfolgt die Durchführung der eigentlichen chemischen Reaktion nach dem Fachmann bekannten und von der jeweiligen Reaktion abhängigen Methoden. Im Fall der PCR wird im Gerät ein definierter Temperaturcyclus mehrmals durchfahren und so die Reaktionskammern (2) samt Inhalt über festgelegte Zeiträume auf unterschiedliche Temperaturen gebracht. Die für die PCR anzuwendenden Temperaturcyclen, Temperaturen sowie Zeiträume sind bekannt. Grundsätzlich kann die PCR in allen bekannten Varianten mit Hilfe des erfindungsgemässen Systems durchgeführt werden. Eine bevorzugte Ausführungsform gemäss der vorliegenden Erfindung besteht darin, eine Reaktionsmischung enthaltend die zu amplifizierende und zu analysierende Nukleinsäure-Templat, Primer, Polymerase, dNTPs, sowie Fluoreszenzsonden über einen bestimmten Zeitraum auf 90-100°C zu erhitzen, gefolgt von einer Abkühlung, Halten bei einer tieferen Temperatur, sowie erneutem Erhitzen auf 72°C (abhängig von der verwendeten Polymerase), gefolgt von Denaturieren bei 90-100°C. In der Regel soll dieser Temperaturcyclus etwa 30-50 mal, vorzugsweise etwa 35-40 mal durchlaufen werden, bis man eine ausreichende Menge der gewünschten DNA vorliegen hat. Während der

Durchführung der Reaktion kann eine wie nachstehend beschriebene Fluoreszenzmessung durchgeführt werden, um den Fortgang der Reaktion zu überwachen.

Anschliessend wird eine Fluoreszenzmessung der Reaktionsmischung durchgeführt. Hierfür wird die Reaktionsmischung einer kontinuierlichen Temperaturerhöhung, beispielsweise mit einer Erwärmungsrate von 0,1 °C/s bis zu 10°C/s, ausgesetzt, während elektromagnetische Strahlung mit einer für die Fluoreszenzmessung geeigneten Wellenlänge eingeleitet wird. Derartige Messverfahren und ihre Durchführung sind dem Fachmann bekannt.

Die von der Reaktionsmischung in der Reaktionskammer (2) emittierte Strahlung wird von der Erfassungseinheit aufgefangen und in ein elektrisches Signal umgewandelt. Dieses Signal wird, gegebenenfalls nach vorheriger Modulation und/oder Verstärkung, in die Steuereinheit des Systems geleitet und dort mit einer entsprechenden Software ausgewertet. Die Auswertung fluorometrischer Messungen ist bekannt. Erfindungsgemäss bevorzugt wird das Ergebnis der Fluoreszenzmessung in Form der ersten negativen Ableitung ( $-dF/dT$ ) ausgegeben.

Mit dem erfindungsgemässen System können selbst kleine Volumina im Bereich von einschliesslich 100 nl bis einschliesslich 2 µl zuverlässig bearbeitet und ausgewertet werden.

Die Durchführung einer PCR mit dem erfindungsgemässen System wird anhand eines nicht einschränkenden Beispiels veranschaulicht.

### Beispiel 1

Die Reaktionskammern (2) wurden über die Öffnung (3) der Probenkammermatrix (1) mit zwei Reaktionsmischungen befüllt. Eine der Reaktionsmischungen enthielt geringe Mengen an Nukleinsäuren des Bakteriums *Escherichia coli* (E.coli). Die zweite Reaktionsmischung enthielt geringe Mengen an Nukleinsäuren des Bakteriums *Streptokokkus pneumoniae*. Das Befüllen der Reaktionskammern (2) erfolgte mit Hilfe herkömmlicher

Insulinspritzen. Anschliessend wurde die Öffnung (3) verschlossen und die Reaktionsvorrichtung in das Gerät eingeführt. An die Reaktionskammern (2) wurde das in Fig. 7 gezeigte Temperaturprofil angelegt. Nachdem die Reaktionsmischungen über einen Zeitraum von 250 s auf 95°C erhitzt wurden, erfolgt eine Abkühlung auf 48°C. Nach Halten für 20 s bei 48°C erfolgt ein erneutes Erhitzen auf 72°C für 20 s, gefolgt von Erhitzen auf 95°C für 5 s. Dieser Cyclus wurde etwa 30-45 mal wiederholt, bis eine ausreichende Menge an bakterieller DNA in den Reaktionskammern gebildet war (nach 1-1.5 h).

Die Fluoreszenzmessung erfolgte während langsamer Erwärmung der in den Reaktionskammern befindlichen Reaktionsmischungen. Es kommt mit zunehmender Temperatur zu einer Abnahme der Fluoreszenz. Bei der Schmelztemperatur sind 50% der Sonden von der Nukleinsäure abgeschmolzen. An diesem Punkt ist in der ersten negativen Ableitung ( $-dF/dT$ ) der Messkurven ein Maximum sichtbar, das für eine bestimmte Reaktionsmischung spezifisch ist.

In den Fig. 8 und 9 sind die jeweiligen ersten negativen Ableitungen ( $-dF/DT$ ) der Fluoreszenzmesskurven der beiden untersuchten Reaktionsmischungen gezeigt. Es sind jeweils charakteristische Maxima für DNA von *E. coli* beziehungsweise *Streptokokkus pneumoniae* erkennbar.

Mit dem erfindungsgemässen System ist es somit möglich, zwischen unterschiedlichen in einer Reaktionsmischung befindlichen Polynukleotiden (DNA oder RNA) zu differenzieren. Es ist ebenso möglich, verschiedene Mutationen in Polynukleotiden mit dem erfindungsgemässen System nachzuweisen. Somit kann das erfindungsgemässe System zum Nachweis von Bakterien, Viren oder bestimmten DNA-Mutationen eingesetzt werden. Neben der Diagnose von Krankheiten oder Veranlagungen für Krankheiten kann das erfindungsgemässe System somit auch für das Gebiet der Pharmacogenomics verwendet werden, d.h. der individuell nach der genetischen Veranlagung des Patienten ausgelegten Therapie, beziehungsweise für Phytochemie, Veterinärmedizin, Veterinärbiochemie, Mikrobiologie oder allgemein für Gebiete, bei denen Polynukleotidanalytik betrieben werden muss.

**Patentansprüche**

1. Reaktionsvorrichtung, umfassend eine Probenkammermatrix (1), enthaltend mindestens zwei Reaktionskammern (2), deren Deckflächen und einer Lichtquelle (24, 25) oder einer benachbarten Reaktionskammer zugewandten Seitenwände für elektromagnetische Strahlung in einem für Fluoreszenzmessung erforderlichen Bereich durchlässig sind; sowie mindestens eine Öffnung (3).
2. Reaktionsvorrichtung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass zusätzlich eine Aufheizeinrichtung (8a) und/oder eine Temperaturmesseinrichtung (8b) umfasst sind.
3. Reaktionsvorrichtung nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass die Probenkammermatrix (1) in einem Körper (1') ausgebildet ist, der für elektromagnetische Strahlung in einem für Fluoreszenzmessung erforderlichen Bereich durchlässig ist.
4. Reaktionsvorrichtung nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, dass die Probenkammermatrix (1) in den Körper (1') eingeätzt sind.
5. Reaktionsvorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass die mindestens eine Öffnung (3) mit den Reaktionskammern (2) verbunden ist.
6. Reaktionsvorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, dass die Probenkammermatrix (1) eine Anordnung von Reaktionskammern (2) umfasst, bei der die Reaktionskammern (2) in einer Reihe angeordnet sind.
7. Reaktionsvorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, dass die Probenkammermatrix (1) eine Anordnung von Reaktionskammern (2) umfasst, bei der die Reaktionskammern (2) in vertikalen und horizontalen Reihen zueinander angeordnet sind, so dass die Reaktionskammern (2) durch

zwei im rechten Winkel zueinander angeordneten Reihen von Lichtquellen durchleuchtet werden können.

8. Reaktionsvorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, dass benachbarte Reaktionskammern (2) in der Probenkammermatrix (1) jeweils miteinander durch eine Seitenwand verbunden sind.
9. Reaktionsvorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, dass zwischen benachbarten Reaktionskammern (2) in der Probenkammermatrix (1) ein Freiraum vorhanden ist.
10. Reaktionsvorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 9, dadurch gekennzeichnet, dass eine oder mehrere Reaktionskammern (2) eine oder mehrere chemische Substanzen enthalten.
11. Reaktionsvorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 10, dadurch gekennzeichnet, dass zwischen der Aufheizeinrichtung (8a) und der Probenkammermatrix (1) eine Schicht (6) aus wärmeleitenden Material, vorzugsweise aus Silicium oder wärmeleitfähigen Siliciumverbindungen, angeordnet ist.
12. Reaktionsvorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 11, dadurch gekennzeichnet, dass die Aufheizeinrichtung (8a) ein Heizwiderstand, vorzugsweise aus einem Metall, bevorzugt aus Kupfer oder einem Edelmetall ist.
13. Reaktionsvorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 12, dadurch gekennzeichnet, dass die Temperaturmesseinrichtung (8b) ein Temperaturmesswiderstand, vorzugsweise aus dem gleichen Material wie der Heizwiderstand (8a), besonders bevorzugt aus Kupfer ist.
14. Reaktionsvorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 13, dadurch gekennzeichnet, dass weiterhin eine Abkühleinrichtung (13), vorzugsweise ein Peltier-Kühlelement, umfasst ist.

15. Reaktionsvorrichtung nach Anspruch 14, dadurch gekennzeichnet, dass die Abkühleinrichtung (13) unterhalb eines Trägers (12) angeordnet ist.
16. Reaktionsvorrichtung nach Anspruch 15, dadurch gekennzeichnet, dass zwischen der Aufheizeinrichtung (8a) und dem Träger (12) eine Schicht (11) aus einem wärmeisolierenden Material, vorzugsweise Glas, angeordnet ist.
17. Reaktionsvorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 16, dadurch gekennzeichnet, dass weiterhin ein Verschluss (14, 15, 16, 17) für die mindestens eine Öffnung (3) umfasst ist.
18. Reaktionsvorrichtung nach Anspruch 17, dadurch gekennzeichnet, dass der Verschluss (14, 15, 16, 17) für die Öffnung (4) mit einem Deckel (17) eines Gehäuses (19), in welchem sich die Reaktionsvorrichtung befindet, verbunden ist, wobei der Deckel in dem Bereich oberhalb der Probenkammermatrix (1) ein Fenster (20) aus einem für elektromagnetische Strahlung in einem für Fluoreszenzmessung erforderlichen Bereich durchlässigen Material oder eine Öffnung (20) aufweist.
19. Gerät (G) zur Durchführung und Detektion chemischer Reaktionen, umfassend
  - a) mindestens eine Lichtquelle (24, 25), welche elektromagnetische Strahlung in einem für Fluoreszenzmessung erforderlichen Bereich emittiert;
  - b) eine Erfassungseinheit (28) zur Erfassung von elektromagnetischer Strahlung in einem für Fluoreszenzmessung erforderlichen Bereich, wobei diese Einheit (28) im rechten Winkel zu der mindestens einen Lichtquelle (24, 25) angeordnet ist;
  - c) eine Steuereinheit umfassend eine Zentraleinheit zur Steuerung der Temperatur und der mindestens einen Lichtquelle (24, 25) sowie eine Signalverarbeitungseinheit zur Aufnahme und Verarbeitung eines Signals von der Erfassungseinheit (28);
  - d) eine Öffnung (H) zur Aufnahme einer Reaktionsvorrichtung (R) gemäß einem der Ansprüche 1 bis 18, wobei die Reaktionsvorrichtung (R) sich in

der Ebene der mindestens einen Lichtquelle (24, 25) und unterhalb der Erfassungseinheit (28) befindet.

20. Gerät nach Anspruch 19, dadurch gekennzeichnet, dass zusätzlich Einrichtungen zur Signalverstärkung enthalten sind.
21. Gerät (G) nach einem der Ansprüche 19 bis 20, dadurch gekennzeichnet, dass zwischen der mindestens einen Lichtquelle (24, 25) und der Öffnung zur Aufnahme der Reaktionsvorrichtung (R) und/oder zwischen der Erfassungseinrichtung (28) und der Öffnung zur Aufnahme der Reaktionsvorrichtung (R) Filter (26, 27, 29), vorzugsweise Interferenzfilter, angeordnet sind.
22. Gerät (G) nach einem der Ansprüche 19 bis 21, dadurch gekennzeichnet, dass zwei rechtwinklig zueinander angeordnete Reihen von Lichtquellen (24, 25), welche elektromagnetische Strahlung in einem für Fluoreszenzmessung erforderlichen Bereich emittieren, enthalten sind, wobei jede Reihe mindestens eine derartige Lichtquelle (24, 25) umfasst.
23. Gerät (G) nach einem der Ansprüche 19 bis 22, dadurch gekennzeichnet, dass die Reaktionsvorrichtung (R) im eingeführten Zustand über eine Öffnung (34) befüllt wird und über eine Öffnung (35) in das Gerät eingeführt oder aus dem Gerät entnommen werden kann.
24. Verfahren zur Durchführung einer fluorometrisch auswertbaren Reaktion, enthaltend die Schritte
  - a) Bereitstellung von Reaktionsmischungen, in denen fluoreszierende Bestandteile enthalten sind oder im Verlauf der chemischen Reaktion gebildet werden;
  - b) Durchführung der chemischen Reaktion durch Einstellung mindestens einer Reaktionstemperatur in den Reaktionsmischungen;
  - c) Anregung der Reaktionsmischungen durch elektromagnetische Strahlung in einem für Fluoreszenzmessung erforderlichen Bereich;

- d) Fluorometrische Auswertung der Reaktionsmischungen durch Messung der emittierten Fluoreszenzstrahlung;  
dadurch gekennzeichnet, dass in Schritt c) wenigstens eine Reaktionsmischung gleichzeitig durch die elektromagnetische Strahlung angeregt wird und in Schritt d) die emittierte Fluoreszenzstrahlung von wenigstens dieser einen Reaktionsmischung erfasst und ausgewertet wird.
25. Verfahren nach Anspruch 24, dadurch gekennzeichnet, dass in Schritt c) wenigstens zwei Reaktionsmischungen gleichzeitig durch die elektromagnetische Strahlung angeregt werden und in Schritt d) gleichzeitig die emittierte Fluoreszenzstrahlung dieser Reaktionsmischungen erfasst und ausgewertet wird, wobei die Reaktionsmischungen in Schritt c) mit elektromagnetischer Strahlung unterschiedlicher Intensität angeregt werden, so dass die Intensität der von den Reaktionsmischungen emittierten Fluoreszenzstrahlung unterschiedlich ist und die Reaktionsmischungen aufgrund unterschiedlicher Signalintensität selektiv auswertbar sind.
26. Verfahren nach Anspruch 24, dadurch gekennzeichnet, dass in Schritt c) wenigstens zwei Reaktionsmischungen gleichzeitig durch die elektromagnetische Strahlung angeregt werden und in Schritt d) gleichzeitig die emittierte Fluoreszenzstrahlung dieser Reaktionsmischungen erfasst und ausgewertet wird, wobei Reaktionsmischungen mit fluoreszierenden Bestandteilen ausgewählt werden, die bei unterschiedlichen Frequenzen Fluoreszenzstrahlung emittieren, so dass die Reaktionsmischungen aufgrund unterschiedlicher Signalintensität selektiv auswertbar sind.
27. Verfahren nach Anspruch 24, dadurch gekennzeichnet, dass in Schritt c) wenigstens zwei Reaktionsmischungen gleichzeitig durch die elektromagnetische Strahlung angeregt werden und in Schritt d) gleichzeitig die emittierte Fluoreszenzstrahlung dieser Reaktionsmischungen erfasst und ausgewertet wird, wobei bei einer oder mehreren Reaktionsmischungen die Emission von Fluoreszenzstrahlung durch Fluoreszenzlöschung verhindert wird.

28. Verfahren nach einem der Ansprüche 23 bis 27, dadurch gekennzeichnet, dass die chemische Reaktion die Polymerase-Kettenreaktion (PCR) ist.
29. Verwendung einer Reaktionsvorrichtung gemäss einem der Ansprüche 1 bis 18 zur Durchführung chemischer Reaktionen, vorzugsweise der Polymerase-Kettenreaktion.
30. Verwendung eines Geräts gemäss einem der Ansprüche 19 bis 23 zur Durchführung chemischer Reaktionen, vorzugsweise der Polymerase-Kettenreaktion.
31. System zur thermischen Steuerung von biochemischen Reaktionen in einer Reaktionsflüssigkeit und zur integrierten optischen Auswertung, umfassend
  - a) eine Reaktionsvorrichtung (R) mit eingebautem Heizwiderstand (8a) und Temperaturmesswiderstand (8b) und einer Probenkammermatrix (1)
  - b) eine optische Ausleseseinheit, enthaltend zwei rechtwinklig angeordnete Reihen von Lichtquellen (24, 25) und eine in der dritten Raumrichtung angebrachte Erfassungseinheit (28), sowie
  - c) eine Steuereinheit zur Steuerung des Systems.
32. System gemäss Anspruch 31, dadurch gekennzeichnet, dass dessen Steuereinheit ein sequentielles Ansteuern der Lichtquellen (24, 25) und gleichzeitiges Auslesen der Erfassungseinheit (28), womit die optische Aktivität der einzelnen Reaktionsmischungen in den Reaktionskammern (2) berechnet werden kann.

FIG. 1

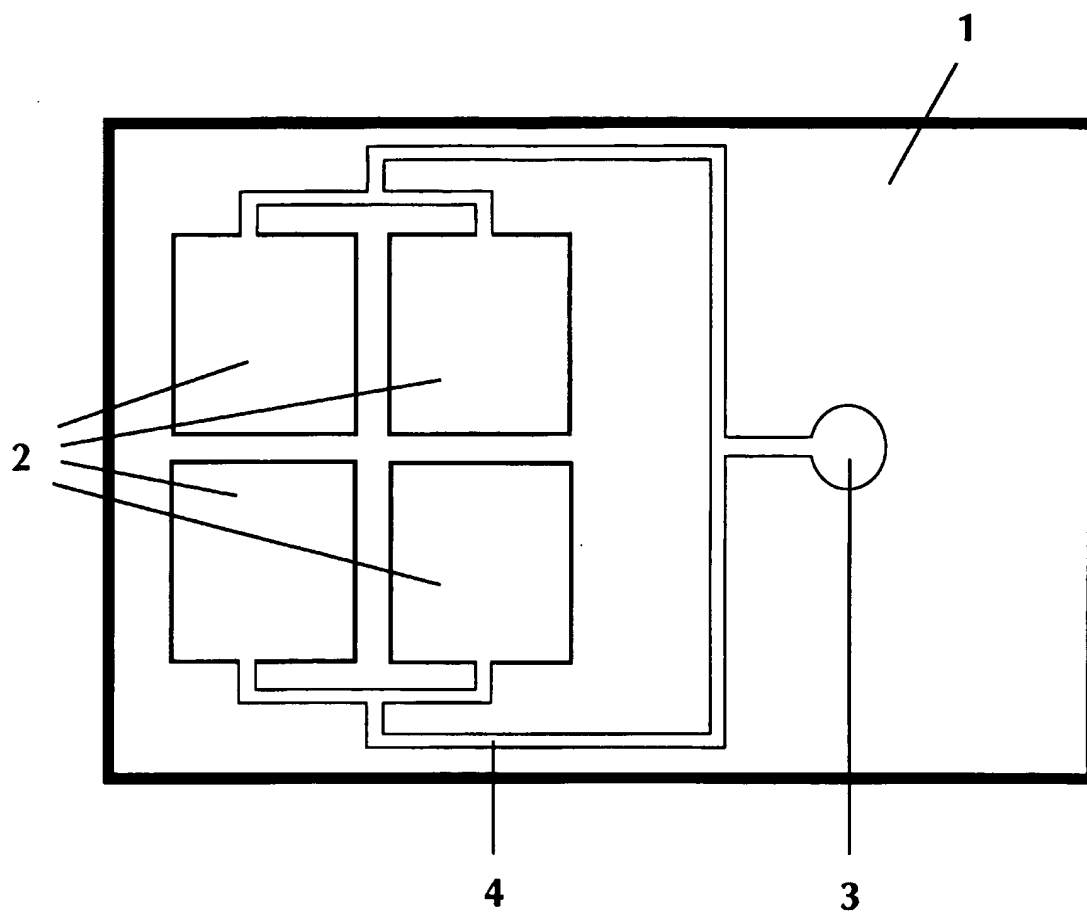


FIG. 2

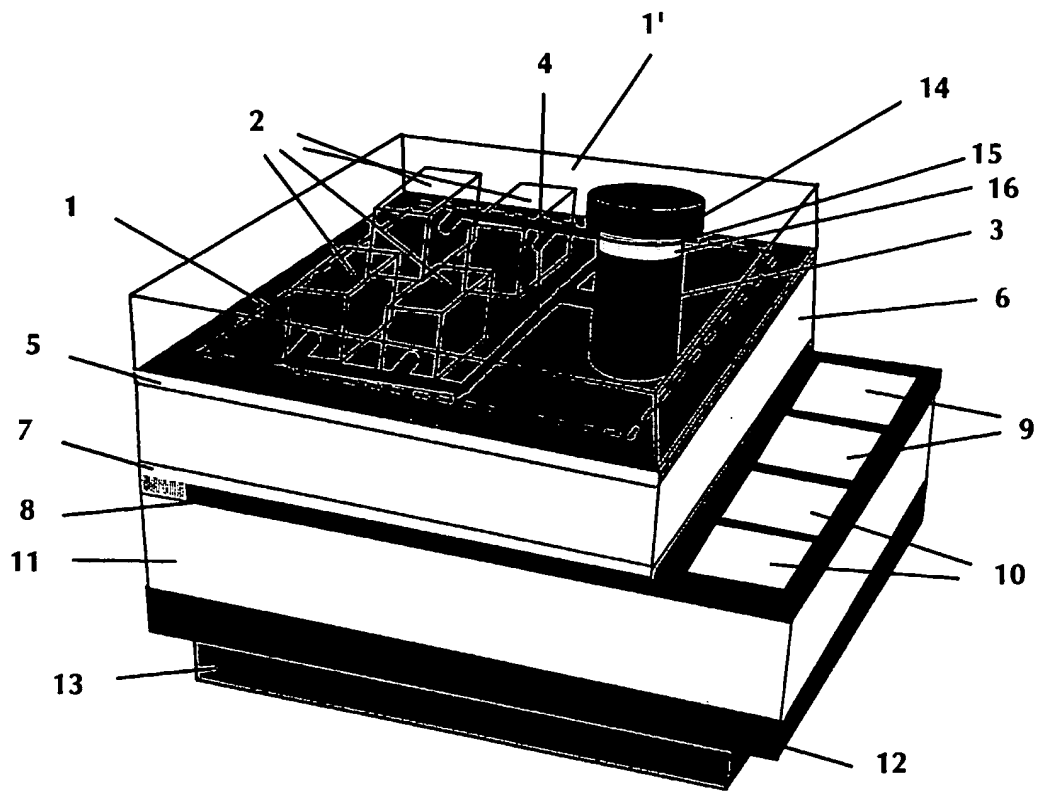


FIG. 3

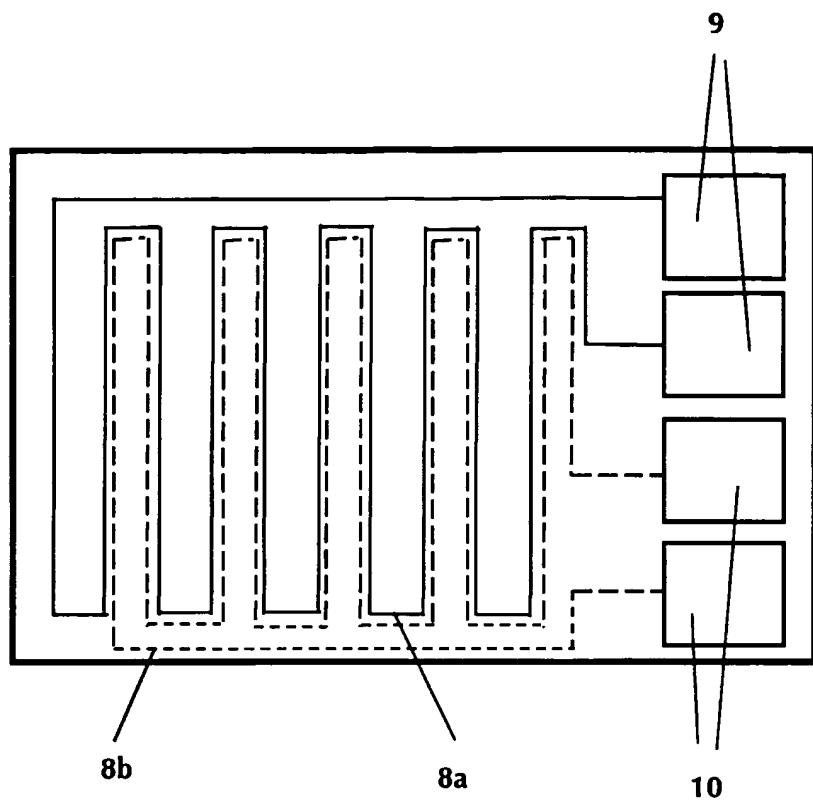


FIG. 4

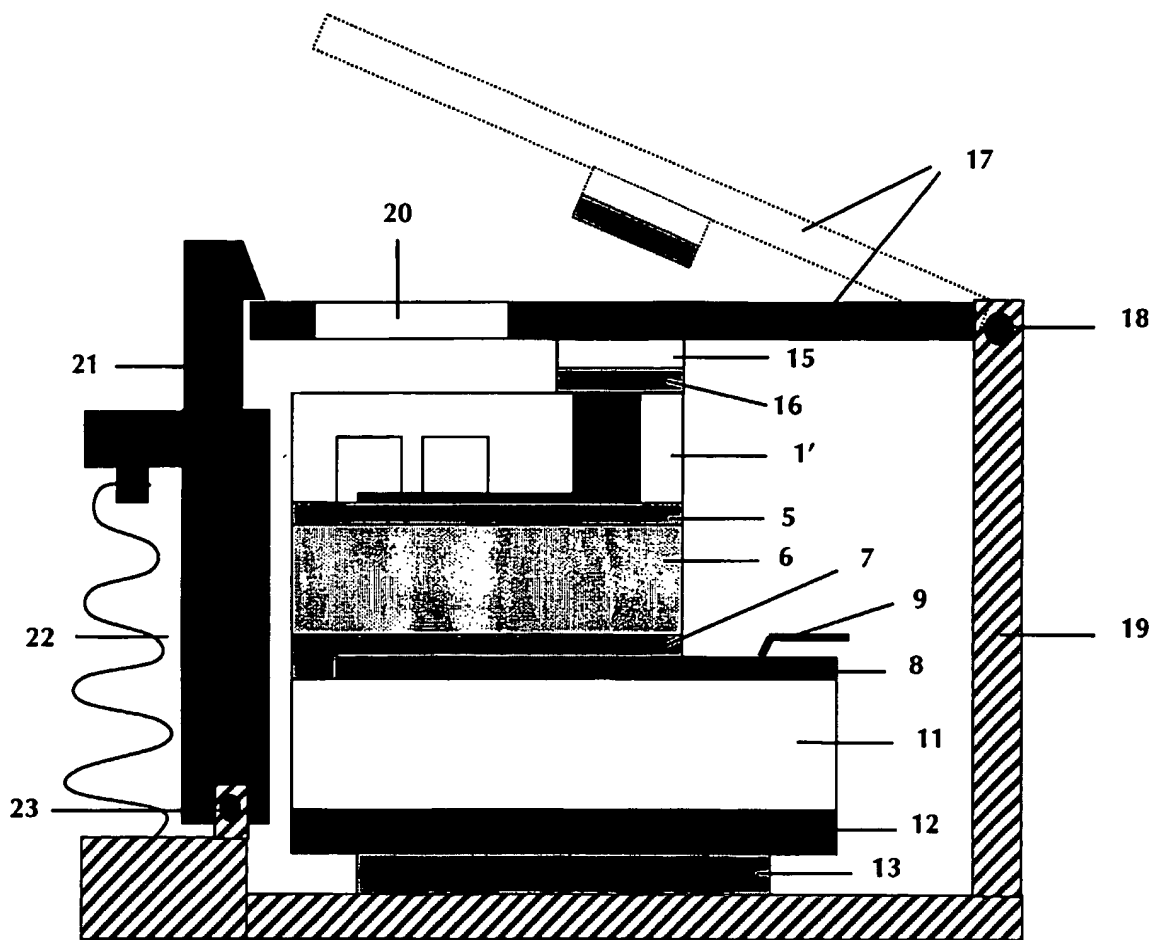


FIG. 5

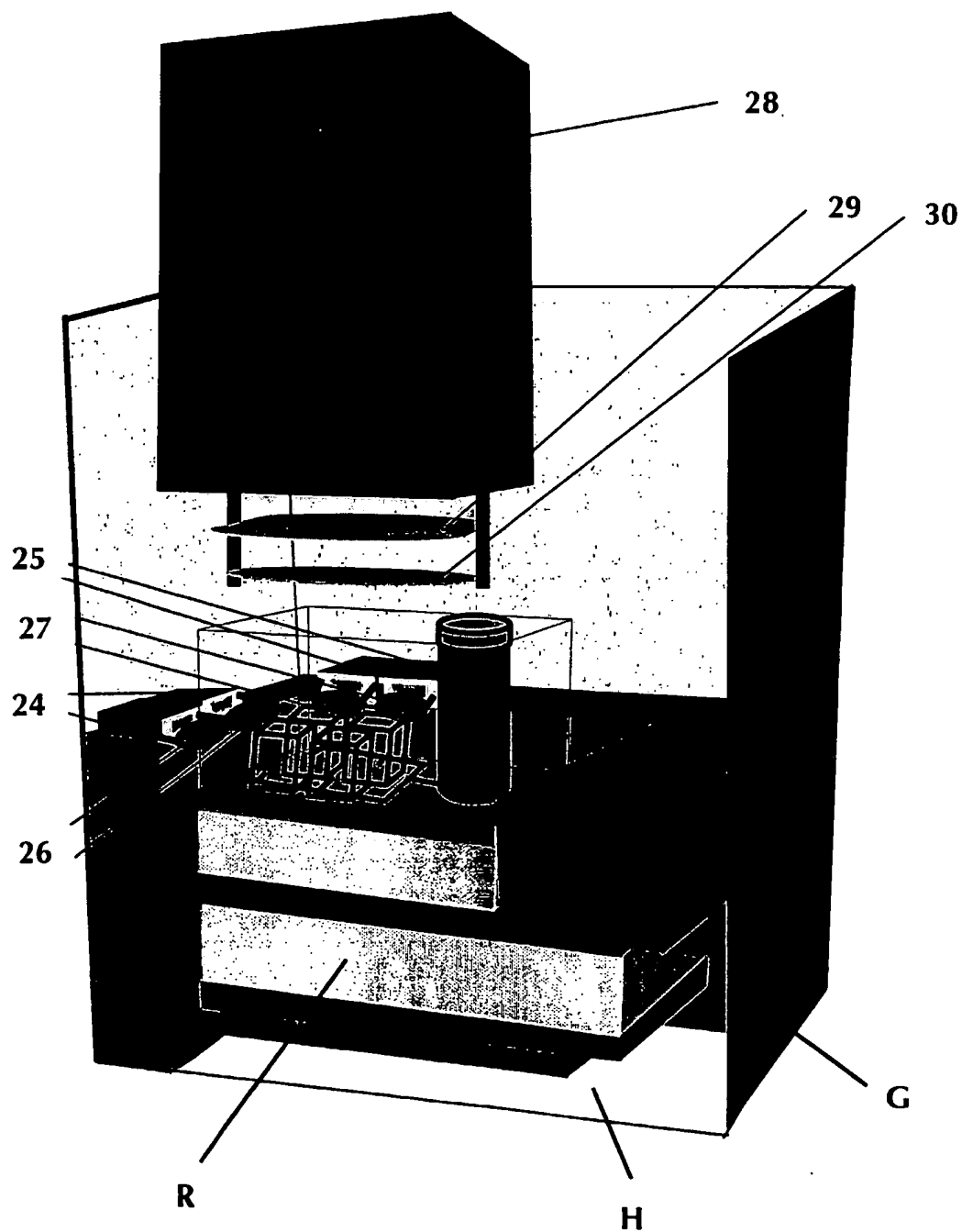


FIG. 6

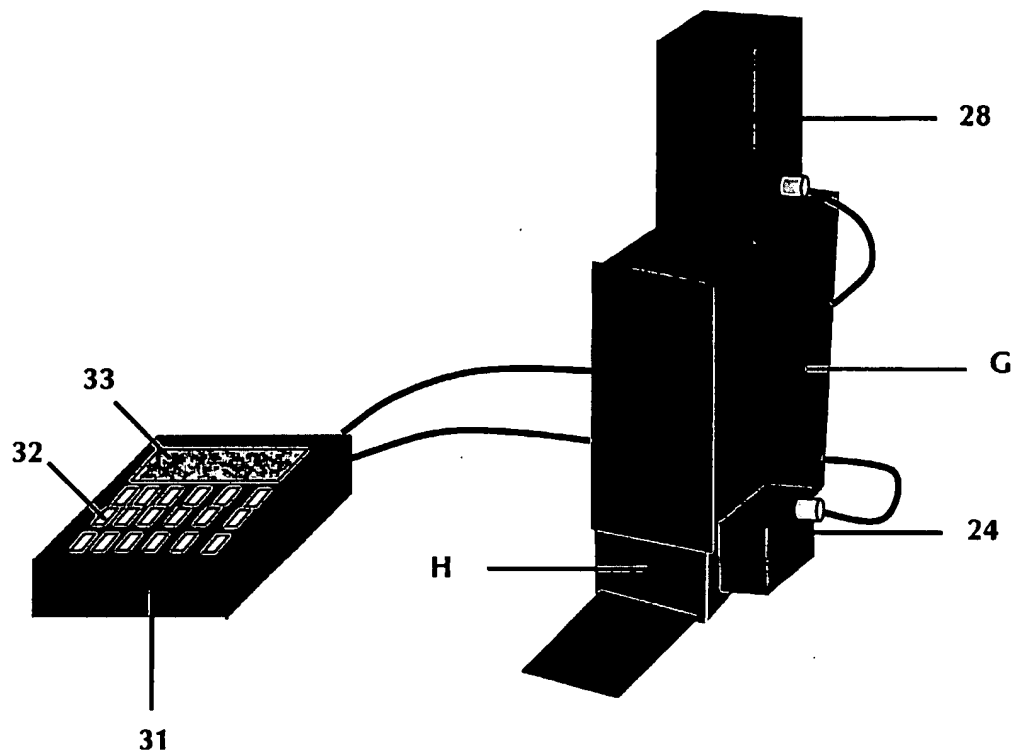


FIG. 7

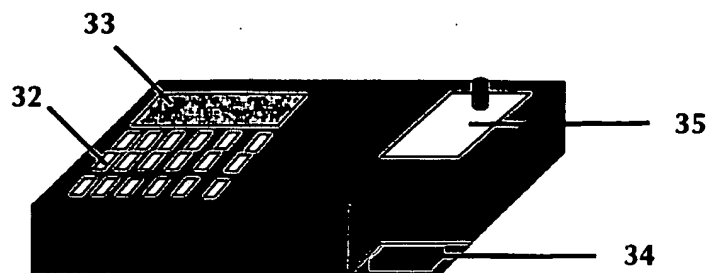


FIG. 8

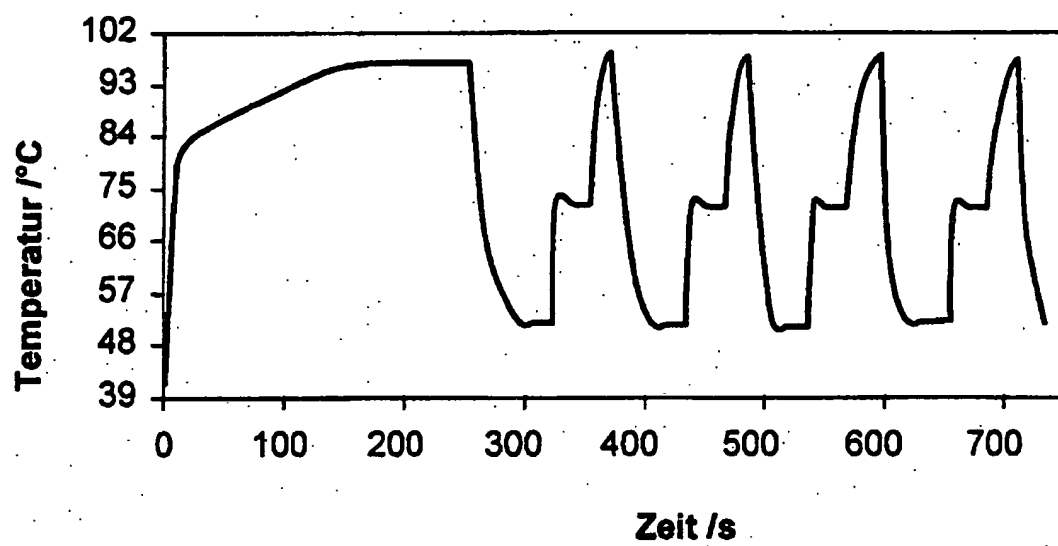


FIG. 9

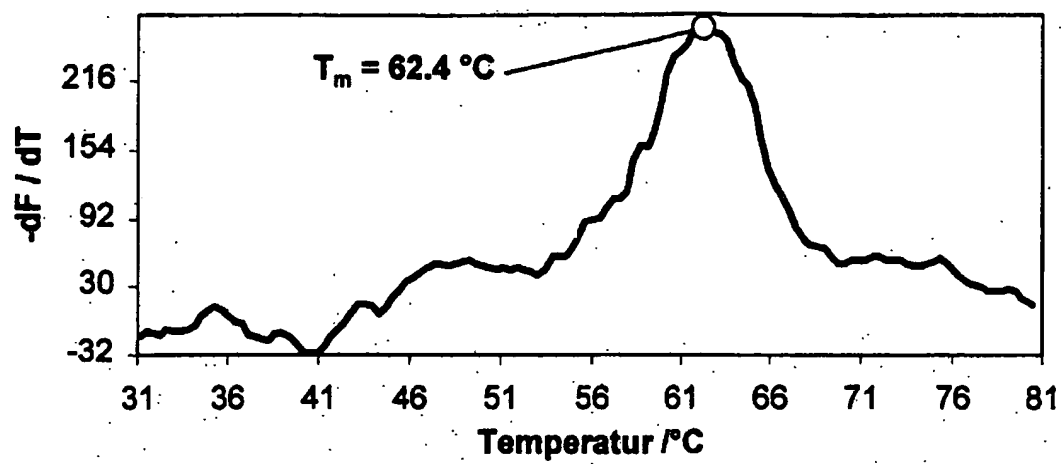
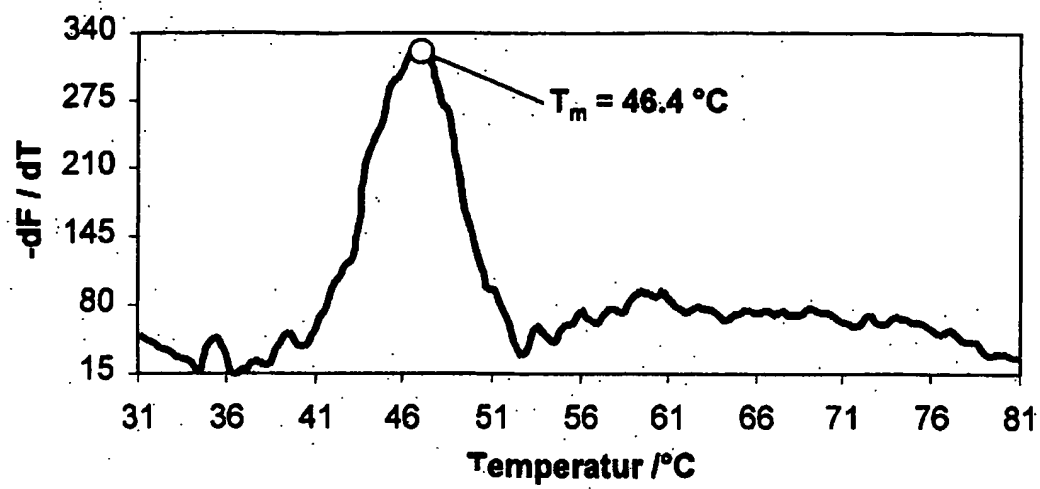


FIG. 10



**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☐ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**